

**UNTERSUCHUNGEN ZUR  
IN VIVO-CHOLESTERINSYNTHESE  
BEIM MINIATURSCHWEIN**

**Dieter Andreas Brechenmacher**

**1975**





Digitized by the Internet Archive  
in 2026



Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Prof.Dr.N.Zöllner

UNTERSUCHUNGEN ZUR IN VIVO - CHOLESTERINSYNTHESE

BEIM MINIATURSCHWEIN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt  
von  
Dieter Andreas Brechenmacher  
aus  
München

1975

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der  
Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz.Dr.W.Kaiser  
Mitberichterstatter: Prof.Dr.N.Zöllner  
Dekan: Prof.Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.1975



|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| I. Vorwort                                               | 1  |
| II. Einleitung                                           | 2  |
| III. Die Bedeutung der Kunst                             | 3  |
| IV. Die Kunst der Vergangenheit                          | 4  |
| V. Die Kunst der Gegenwart                               | 5  |
| VI. Die Kunst der Zukunft                                | 6  |
| VII. Die Kunst und das Leben                             | 7  |
| VIII. Die Kunst und die Wissenschaft                     | 8  |
| IX. Die Kunst und die Religion                           | 9  |
| X. Die Kunst und die Politik                             | 10 |
| XI. Die Kunst und die Moral                              | 11 |
| XII. Die Kunst und die Philosophie                       | 12 |
| XIII. Die Kunst und die Psychologie                      | 13 |
| XIV. Die Kunst und die Pädagogik                         | 14 |
| XV. Die Kunst und die Medizin                            | 15 |
| XVI. Die Kunst und die Naturwissenschaft                 | 16 |
| XVII. Die Kunst und die Technik                          | 17 |
| XVIII. Die Kunst und die Industrie                       | 18 |
| XIX. Die Kunst und die Landwirtschaft                    | 19 |
| XX. Die Kunst und die Handelsgewerbe                     | 20 |
| XXI. Die Kunst und die Dienstleistungen                  | 21 |
| XXII. Die Kunst und die Transportwesen                   | 22 |
| XXIII. Die Kunst und die Kommunikation                   | 23 |
| XXIV. Die Kunst und die Energie                          | 24 |
| XXV. Die Kunst und die Umwelt                            | 25 |
| XXVI. Die Kunst und die Gesellschaft                     | 26 |
| XXVII. Die Kunst und die Kultur                          | 27 |
| XXVIII. Die Kunst und die Sprache                        | 28 |
| XXIX. Die Kunst und die Literatur                        | 29 |
| XXX. Die Kunst und die Musik                             | 30 |
| XXXI. Die Kunst und die Malerei                          | 31 |
| XXXII. Die Kunst und die Skulptur                        | 32 |
| XXXIII. Die Kunst und die Architektur                    | 33 |
| XXXIV. Die Kunst und die Gartenkunst                     | 34 |
| XXXV. Die Kunst und die Landschaftsplanung               | 35 |
| XXXVI. Die Kunst und die Stadtplanung                    | 36 |
| XXXVII. Die Kunst und die Verkehrsplanung                | 37 |
| XXXVIII. Die Kunst und die Raumplanung                   | 38 |
| XXXIX. Die Kunst und die Regionalentwicklung             | 39 |
| XL. Die Kunst und die Entwicklungspolitik                | 40 |
| XLI. Die Kunst und die Friedenspolitik                   | 41 |
| XLII. Die Kunst und die Außenpolitik                     | 42 |
| XLIII. Die Kunst und die Sicherheitspolitik              | 43 |
| XLIV. Die Kunst und die Verteidigungspolitik             | 44 |
| XLV. Die Kunst und die Rüstungspolitik                   | 45 |
| XLVI. Die Kunst und die Abrüstungspolitik                | 46 |
| XLVII. Die Kunst und die Nichtverbreitung von Atomwaffen | 47 |
| XLVIII. Die Kunst und die Konfliktvermeidung             | 48 |
| XLIX. Die Kunst und die Friedensförderung                | 49 |
| L. Die Kunst und die Entwicklungsförderung               | 50 |
| LXI. Die Kunst und die Kulturpolitik                     | 51 |
| LXII. Die Kunst und die Sprachpolitik                    | 52 |
| LXIII. Die Kunst und die Literaturpolitik                | 53 |
| LXIV. Die Kunst und die Musikpolitik                     | 54 |
| LXV. Die Kunst und die Malereipolitik                    | 55 |
| LXVI. Die Kunst und die Skulpturpolitik                  | 56 |
| LXVII. Die Kunst und die Architektupolitik               | 57 |
| LXVIII. Die Kunst und die Gartenbaupolitik               | 58 |
| LXIX. Die Kunst und die Landschaftsbaupolitik            | 59 |
| LXX. Die Kunst und die Stadtbaupolitik                   | 60 |
| LXXI. Die Kunst und die Verkehrsbaupolitik               | 61 |
| LXXII. Die Kunst und die Kommunikationspolitik           | 62 |
| LXXIII. Die Kunst und die Energiepolitik                 | 63 |
| LXXIV. Die Kunst und die Umweltpolitik                   | 64 |
| LXXV. Die Kunst und die Gesellschaftspolitik             | 65 |
| LXXVI. Die Kunst und die Kulturpolitik                   | 66 |
| LXXVII. Die Kunst und die Sprachpolitik                  | 67 |
| LXXVIII. Die Kunst und die Literaturpolitik              | 68 |
| LXXIX. Die Kunst und die Musikpolitik                    | 69 |
| LXXX. Die Kunst und die Malereipolitik                   | 70 |
| LXXXI. Die Kunst und die Skulpturpolitik                 | 71 |
| LXXXII. Die Kunst und die Architektupolitik              | 72 |
| LXXXIII. Die Kunst und die Gartenbaupolitik              | 73 |
| LXXXIV. Die Kunst und die Landschaftsbaupolitik          | 74 |
| LXXXV. Die Kunst und die Stadtbaupolitik                 | 75 |
| LXXXVI. Die Kunst und die Verkehrsbaupolitik             | 76 |
| LXXXVII. Die Kunst und die Kommunikationspolitik         | 77 |
| LXXXVIII. Die Kunst und die Energiepolitik               | 78 |
| LXXXIX. Die Kunst und die Umweltpolitik                  | 79 |
| LXXXX. Die Kunst und die Gesellschaftspolitik            | 80 |

Meiner lieben Frau  
gewidmet



| INHALTSVERZEICHNIS                                                                                                            | Seite |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| A. ABKÜRZUNGEN                                                                                                                | 1     |
| B. EINLEITUNG                                                                                                                 | 2     |
| C. METHODIK                                                                                                                   | 8     |
| I. Versuchstiere                                                                                                              | 8     |
| II. Verabreichung und Dosierung der<br>Medikamente bzw. der Substanzen                                                        | 8     |
| III. Extraktion und Bestimmungsmethodik<br>von Sterolen                                                                       | 10    |
| IV. Chemikalien                                                                                                               | 12    |
| D. EIGENE UNTERSUCHUNGEN                                                                                                      | 13    |
| I. Untersuchungen an Ratten                                                                                                   | 13    |
| 1. Untersuchung über die <u>in vivo</u><br>Cholesterinsynthese durch Block-<br>ierung der Desmosterin-Reduktase<br>mit MER/29 | 13    |
| 2. Untersuchung zur <u>in vivo</u> -Chole-<br>sterinsynthese durch Blockierung<br>der 7-DH-Reduktase mit Ay 9944              | 16    |
| II. Untersuchungen am Miniaturschwein                                                                                         | 17    |
| 1. Täglich orale Gabe von Ay 9944                                                                                             | 17    |
| 2. Einmalinjektion von Ay 9944                                                                                                | 17    |
| 3. Tägliche intravenöse Verabrei-<br>chung von Ay 9944                                                                        | 19    |
| 4. <u>In vivo</u> -Untersuchungen zur<br>Tag-Nachtrhythmik der Chole-<br>sterinsynthese                                       | 21    |

|                                                                                                                                                                                              | Seite |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 5. Diätetische Einflüsse auf die<br><u>in vivo</u> -Cholesterinsynthese                                                                                                                      | 25    |
| 6. Beeinflussung der <u>in vivo</u> -Cholesterinsynthese durch Änderung<br>der intestinalen Absorption und<br>Reabsorption von Cholesterin<br>mittels Verabreichung von Algin<br>und Tomatin | 29    |
| 7. Untersuchungen zur <u>in vivo</u> -Cholesterinsynthese unter dem Einfluß<br>verschiedener Serumcholesterin<br>senkender Medikamente                                                       | 31    |
| E. ZUSAMMENFASSENDE DISKUSSION DER<br>ERGEBNISSE                                                                                                                                             | 37    |
| F. LITERATURVERZEICHNIS                                                                                                                                                                      | 44    |
| G. LEBENS LAUF                                                                                                                                                                               | 46    |

A. ABKÜRZUNGEN

|                     |                                                                                    |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Ay 9944             | Trans-1,4-bis(2-chlorobenzyl-aminomethyl)cyclohexandihydrochlorid                  |
| CPIB (Clofibrat)    | $\alpha$ - chlorphenoxyisobutyrat                                                  |
| 7 - DH              | 7 - Dehydrocholesterin                                                             |
| MER/29 (Triparanol) | 1-(p-( $\beta$ -diäthylaminomethoxy)-phenyl)-1-(p-tolyl)-2-(p-chlorophenyl)äthanol |
| HMG CoA - Reduktase | $\beta$ -Methyl-glutaryl-CoA-Reduktase                                             |

## B. EINLEITUNG

Der Cholesterinspiegel bei Tier und Mensch unterliegt einer homöostatischen Kontrolle, das heißt, daß der Serumcholesterinspiegel sowohl durch einen Input in den Cholesterinpool des Körpers, als auch durch Elimination aus diesem Pool relativ konstant gehalten wird.

Während dieser Input durch Absorption von mit der Nahrung zugeführtem Cholesterin und einer Cholesterinsynthese, zu der beinahe alle Gewebe befähigt sind, zustande kommt, erfolgt eine Elimination von Cholesterin und Cholesterinabbauprodukten über den Darm sowie durch Austauschvorgänge zwischen verschiedenen Körperpools.

Die Konstanz des Cholesterinpools im Körper dagegen hängt von der Geschwindigkeit und der Präzision ab, mit der die Gleichgewichtseinstellungen zwischen Absorption, endogener Cholesterinsynthese und Katabolismus bzw. Exkretion von Cholesterin zustande kommen. In diese Serie von Prozessen sind Kompensations- bzw. Regulationsmechanismen eingebaut. So ist z.B. von Ratten bekannt, daß eine nahrungsbedingte Serumcholesterinerhöhung mittels einer raschen Hemmung insbesondere der hepatischen Cholesterinsynthese kompensiert werden kann.

Die bis heute bekannten Regulationsvorgänge bei Tieren

wurden durch zahlreiche in vitro-Untersuchungen an verschiedenen Organen und einigen Tierspezies untersucht. Dabei basieren die Kenntnisse über Bilanz und Regulation des Cholesterinstoffwechsels vorwiegend auf Methoden, die die Einflüsse auf die Cholesterinregulation mittels quantitativer Bestimmung des  $^{14}\text{C}$ -Acetateinbaus an der Rattenleber oder Bestimmung von Aktivitätsänderungen am Schlüsselenzym der Cholesterinsynthese, der HMG CoA-Reduktase, untersuchten.

Diese Untersuchungen haben den Nachteil, daß wiederholte Bestimmungen am gleichen Tier oder quantitative Aussagen über die in vivo-Cholesterinsynthese nicht gemacht werden können. Deshalb wurde versucht, durch Injektionen von  $^{14}\text{C}$ -Acetat oder  $^{14}\text{C}$ -Mevalonat in das lebende Tier den in vivo-Cholesterinstoffwechsel und seine Bilanz zu bestimmen. Die Ergebnisse hierüber waren jedoch nicht sehr aussagekräftig, da diese Isotopenmethodik durch die verschiedenen in mehrere Richtungen austauschenden Cholesterin pools kompliziert wird.

Bis jetzt bestehen weder beim Tier noch beim Menschen geeignete Methoden zur Messung der Cholesterinabsorption, -synthese und -degradation, noch Methoden zur Messung der Austauschbarkeit von Cholesterin zwischen den einzelnen Körperpools, so daß es nicht möglich ist, die Einflüsse auf die unterschiedlichen Mechanismen in vivo abzuschätzen.

Zur Aufdeckung von komplizierten Stoffwechselprozessen bzw. zur Bestimmung der Synthesegeschwindigkeit in einer Stoffwechselreaktionskette hat sich in der Biochemie eine Methode als nützlich erwiesen, die darin besteht, eines der Enzyme, möglichst am Ende der Stoffwechselkette, zu hemmen und das dadurch vor dem gehemmten Enzym akkumulierte Substrat zu bestimmen. Die Höhe des dann bestimmten Substrates darf als Maß für die Geschwindigkeit der Reaktionskette gelten, wenn das Substrat selbst nicht zu einer Rückkopplungshemmung für die Synthese führt.

In den letzten Schritten der Cholesterinsynthese wirken zwei spezifische, nicht kompetitive Inhibitoren, Ay 9944 und MER/29. Diese beiden Inhibitoren wurden auf ihre Wirkungsweise an der Rattenleber untersucht. Für die klinische Anwendung beim Menschen aber haben sie sich als zu toxisch erwiesen.

Die Wirkungsweise von Ay 9944 besteht darin, daß die 7-DH-Reduktase spezifisch gehemmt wird, das heißt, die enzymatische Umwandlung von 7-DH zu Cholesterin wird blockiert. Es kommt zur Anhäufung von 7-DH.

MER/29 blockiert die enzymatische Umwandlung von Desmosterin zu Cholesterin, wodurch es zur Anhäufung von Desmosterin kommt (siehe Abb.1).

Auf der Grundlage dieser Überlegungen entwickelten BRICKER, WEISS und SIPERSTEIN (1) 1972 eine Methode, mit der sie in vivo bei der Ratte die Geschwindig-

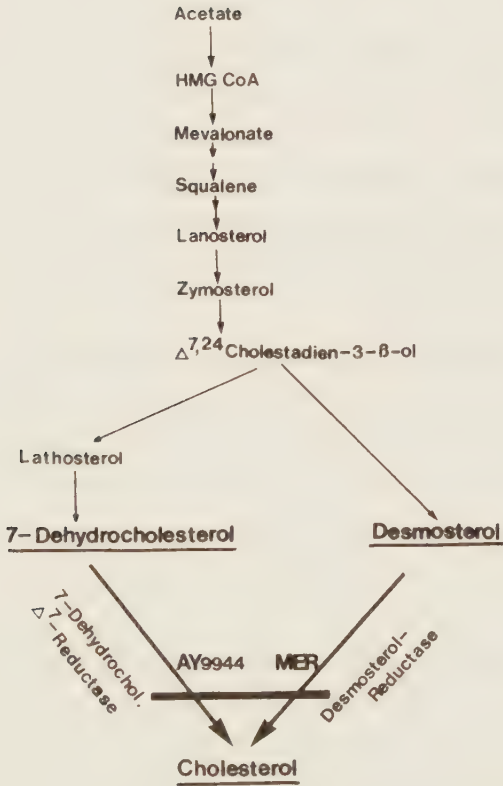


Abb.1

keit der Cholesterinproduktion und die Abgabe von Cholesterin in das Plasma messen konnten, ohne auf komplizierte Isotopenmethoden zurückgreifen zu müssen. Bei dieser Methode also wird der Beitrag der endogenen Sterolproduktion zum Plasmacholesterinpool bestimmt, indem durch orale Gabe des Inhibitors MER/29 die Desmosterin-Reduktase komplett blockiert wird, und der Desmosterinspiegel im Plasma als Maß für die endogene Sterolproduktion und ihre Abgabe an das Plasma gewertet wird.

Ein entscheidender Grund für die Verwendung des Inhibitors Ay 9944 zur Messung der in vivo-Cholesterinsynthese lag für uns allein schon in der geeigneteren Nachweisbarkeit von 7-DH gegenüber der von Desmosterin sowohl gaschromatographisch als auch photometrisch, sowie in der in Rattenleberhomogenaten im Vergleich zu MER/29 gemessenen hundertfach höheren inhibitorischen Potenz. Wie sich nachträglich herausstellte, (siehe Ergebnisse D.I.1.) ist Ay 9944 der Substanz MER/29 auch insofern überlegen, da es im Vergleich zu dieser zu keiner Rückkopplung der Cholesterinsynthese durch das akkumulierte Substrat kommt.

Im folgenden sollen also die Möglichkeiten aufgeführt und besprochen werden, auf welche Weise im Tierexperiment in vivo-Regulationen auf die Cholesterinsynthese beobachtet und gemessen werden können,

indem durch Hemmung der Desmosterin-Reduktase mit MER/29 ("Desmosterin-Suppressions-Technik") oder durch Hemmung der 7-DH-Reduktase mit Ay 9944 ("7-DH-Suppressions-Technik") die Cholesterinproduktion und die Abgabe in den Plasmacholesterinpool auf Grund der Höhe des anfallenden Substrates im Plasma bestimmt wurde.

Einzelne Untersuchungen wurden dabei an der Ratte durchgeführt, verschiedene Einflüsse auf die in vivo-Cholesterinsynthese aber am Miniaturschwein untersucht, da der Lipidstoffwechsel dieser Tierspezies weit mehr demjenigen des Menschen gleicht als der der Ratte.

## C. METHODIK

### I. Versuchstiere

#### 1. Ratten

Zu den Untersuchungen wurden männliche SPRAGUE-DAWLEY Ratten derselben Zucht mit einem Körpergewicht zwischen 150-180g verwendet. Die Ratten wurden mit kommerzieller Volldiät (Altrom R 15) und Leitungswasser ad libidum gefüttert.

#### 2. Miniaturschweine

Sämtliche Untersuchungen wurden an kastrierten männlichen HANFORD-Miniaturschweinen durchgeführt. Das Gewicht der Tiere lag zwischen 30 und 50kg, das Alter betrug jeweils 6-16 Monate. Als Futter verwendeten wir handelsübliches Schweinefutter (DLG Schweinemastfutter II).

Injektionen und Blutentnahmen erfolgten über einen Gefäßdauerkatheter, der operativ entweder direkt in den rechten Herzvorhof oder in die vena cava superior bzw. inferior gelegt wurde.

### II. Verabreichung und Dosierung der Medikamente bzw. der Substanzen

#### 1. Verabreichung bei Ratten

##### a) Ay 9944

Zur Hemmung der 7-DH-Reduktase wurde die

Substanz Ay 9944 in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und gleichmäßig über die pro Katze als Tagesdosis bemessenen Futterpellets verteilt. Die Dosierung betrug 1mg/kg.

b) MER/29

MER/29 wurde gleichfalls in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und gleichmäßig auf die jeweilige Futtermenge verteilt. Die Tagesdosis betrug 5mg/kg.

c) CPIB

CPIB wurde in Chloroform-Methanol (1:1, v/v) gelöst und in einer Dosierung von 200mg/kg über die täglich zugemessene Futtermenge verteilt.

## 2. Verabreichung beim Miniaturschwein

a) Ay 9944

Die orale und intravenöse Verabreichung ist unter D.II.1-3 aufgeführt.

b) Cholesterin

Cholesterin wurde als Reinsubstanz (Cholesterin p.a. Merck) in einer Dosierung von 400mg/kg/die ( = 20g/die ) dem Futter beigemengt.

c) CPIB

CPIB lösten wir in Chloroform-Methanol (1:1,v/v) und verteilten es gleichmäßig über die tägliche Futtermenge. Die Dosierung betrug 2g/kg/die.

d)  $\beta$ -Pyridylcarbinol

Diese Substanz in Form von Ronicol<sup>R</sup> Dragees wurde pulverisiert und in einer Konzentration von 8mg/kg/die der täglichen Futtermenge zugegeben.

e) Algin

Alginpulver gaben wir mit Wasser aufgeschlemmt in einer Dosierung von 800mg/kg/die dem Futter bei.

f) Tomatin

Dies verabreichten wir als Reinsubstanz in einer Dosis von 10mg/kg/die.

III. Extraktion und Bestimmungsmethodik von Sterolen

1. Extraktion von Cholesterin, Desmosterin und

7-DH aus dem Plasma

0,3 ml Plasma wurden eine Stunde bei 90°C mit 2 ml äthanolischer Kalilauge ( 1Teil 30%ige Kalilauge und 1Teil absolutes Äthanol) verseift.

Die nicht verseifbaren Sterole wurden 3mal mit je 10 ml Petroläther extrahiert. Nach Abblasen des Petroläthers mit Stickstoff wurde der Rückstand zur photometrischen Bestimmung (siehe Abs.2) in 1 ml Eisessig aufgenommen, für gaschromatographische Untersuchungen (siehe Abs.3) in Pyridin.

## 2. Photometrische Bestimmung von 7-DH nach der Methode von KIM und GOLDBERG (2) als "fast acting sterols" mit dem Liebermann-Burchard-Reagens

Für die in unseren Untersuchungen notwendige Bestimmung des 7-DH Gehalts im Plasma nach Ay 9944-Gabe ist diese Methode spezifisch; eventuell entstehende Peroxide werden miterfaßt (3). Die Werte des 7-DH, die als "fast acting sterols" bestimmt wurden, sind bei uns und bei DVORNIK und HILL (3) identisch mit den gaschromatographisch gemessenen.

## 3. Gaschromatographie

Gaschromatographische Kontrollbestimmungen von Cholesterin, Desmosterin und 7-DH wurden im Gaschromatographen der Fa. Packard durchgeführt.

Säulenmaterial: 3% QF 1 oder 3% OV 17

Temperatur: 220°C

Trägergas: Argon

Durchflußrate: 50 ml/min.

Als innerer Standard diene 5-a-Cholestan.

#### IV. Chemikalien

Ay 9944 wurde uns freundlicherweise von der  
Firma Ayerst,  
MER/29 von der Firma Merrell & Co. zur Verfügung  
gestellt.

Algin: Natriumalginat purum, Firma Roth

Tomatin: Tomatin purum, Firma Roth/Fluka

CPIB: Regelan<sup>R</sup> Kapseln, ICI-Pharma

ß-Pyridylcarbinol: Ronicol<sup>R</sup> Dragees, Firma Roche

## D. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### I. Untersuchungen an Ratten

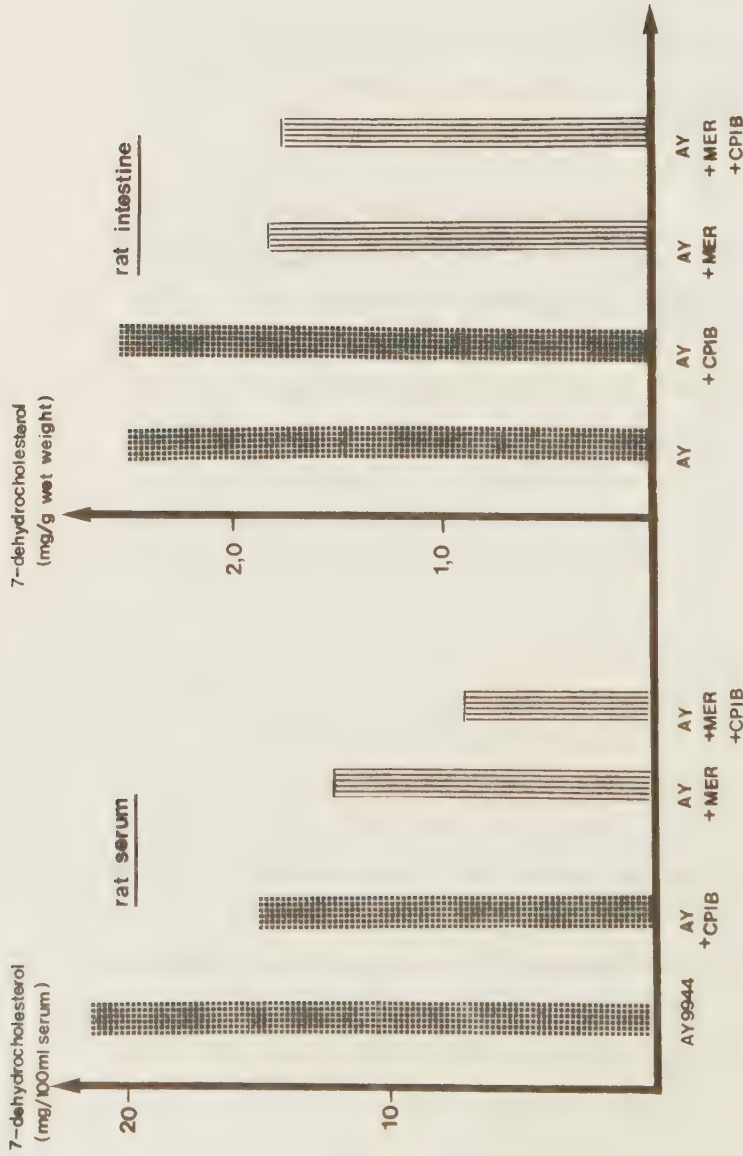
#### 1. Untersuchung über die in vivo-Cholesterinsynthese durch Blockierung der Desmosterin-Reduktase mit MER/29

Eine Gruppe von Ratten (jeweils 4 Tiere) wurde 21 Tage lang mit der unter C.II. angegebenen Konzentration von Ay 9944 und MER/29 gefüttert, eine zweite mit Ay 9944, MER/29 und CPIB.

Bei Bestimmung der 7-DH Konzentration im Serum, Dünndarm und der Leber (angegeben wird der Mittelwert aus einer Gruppe von jeweils vier Tieren) zeigte sich eine deutliche Verminderung des 7-DH gegenüber der als Kontrollgruppen nur mit Ay 9944 und Ay 9944 mit CPIB gefütterten Ratten (siehe Abb.2).

Die Verminderung des 7-DH Gehaltes in der Leber um etwa 35% (von 2,0mg/g auf 1,4mg/g) (siehe Abb.3) macht deutlich, daß durch MER/29 eine zusätzliche Blockierung in der Cholesterinsynthesekette erfolgt, die sich nur damit erklären läßt, daß das während der Verabreichung von MER/29 akkumulierte Substrat Desmosterin eine feed-back-Hemmung auf die Gesamtcholesterinsynthese in der Leber bewirkt.

Die Ergebnisse dieser Rattenversuche zeigen also,



Einfluß von CPIB (200mg/kg/die, 21 Tage gefüttert) auf die in vivo-Cholesterinsynthese bei Ratten.

Hemmung der 7-Dehydrocholesterol-Reduktase mit AY 9944 ( 1 mg/kg/die) und der Desmosterol-Reduktase mit MER ( 5 mg/kg/die)

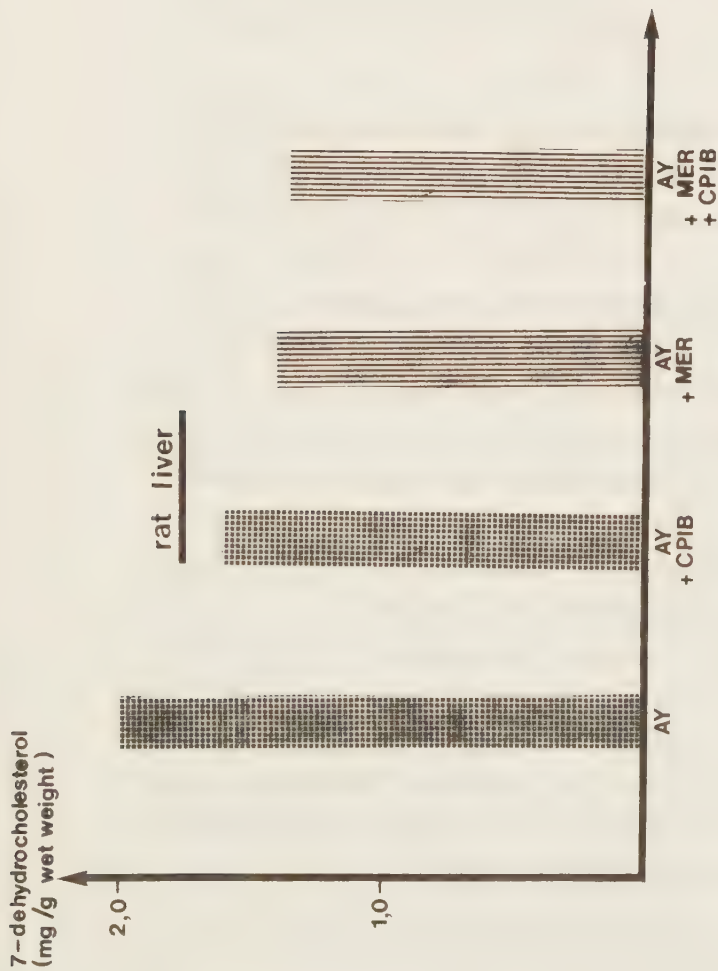


Abb. 3 7-DH Konzentration in der Leber der Ratte nach oraler Gabe von CPIB bei Blockierung der 7-DH-Reduktase mit AY und der Desmosterin - Reduktase mit MER/29

daß das akkumulierte Desmosterin per se den Ablauf der Cholesterinsynthese hemmend beeinflusst, und daß damit quantitative Aussagen über weitere Regulationsmechanismen der in vivo-Cholesterinsynthese nicht mehr sicher möglich sind.

## 2. Untersuchungen zur in vivo-Cholesterinsynthese durch Blockierung der 7-DH-Reduktase mit Ay 9944

Nach 21-tägiger Applikation des 7-DH-Reduktase Blockers Ay 9944 fanden wir im Serum der Ratten eine 7-DH Konzentration von 21,5mg/100 ml, im Dünndarm eine Konzentration von 2,5mg/g und in der Leber einen 7-DH Gehalt von 2mg/g (siehe Abb.2). Im Serum und der Leber derjenigen Ratten, die zusätzlich CPIB gefüttert bekamen, konnten wir eine Reduzierung des 7-DH um etwa ein Viertel des Kontrollwertes (=7-DH Gehalt der nur mit Ay 9944 gefütterten Ratten) feststellen.

Im Dünndarm dieser Ratten war eine Senkung des 7-DH unter zusätzlicher CPIB Applikation nicht zu sehen (siehe Abb.2). Dies läßt darauf schließen, daß CPIB nur in der Leber eine Hemmwirkung auf die Cholesterinsynthese besitzt, während sie im Dünndarm nicht beeinflusst wird.

Durch die Untersuchungen an Ratten stellte sich die Überlegenheit der "7-DH-Reduktase-Suppressions Technik" mittels Ay 9944 gegenüber der Verwendung von MER/29 zu Beobachtungen über die in vivo-

Cholesterinsynthese heraus.

## II. Untersuchungen am Miniaturschwein

### 1. Tägliche orale Gabe von Ay 9944

Ähnlich wie bei unseren Rattenuntersuchungen begannen wir unsere Experimente am Miniaturschwein durch Hemmung der 7-DH-Reduktase mittels oraler Gabe von 4mg/kg/die Ay 9944, das wir morgens gleichmäßig über das Futter verteilten.

Vermutlich bedingt durch unregelmäßige Futteraufnahme kam es zwar zu 7-DH Anstiegen im Plasma, konstante 7-DH Spiegel über einen längeren Verlauf, das heißt ein "steady state" der 7-DH Konzentration, ließen sich dadurch jedoch nicht erreichen. Deshalb gingen wir dazu über, Ay 9944 in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und bakterienfrei filtriert intravenös mittels eines Herzkatheters zu injizieren.

### 2. Einmalinjektion von Ay 9944

Einmalige intravenöse Injektionen von Ay 9944 in verschiedenen Dosierungen (siehe Abb.4) führte zur sofortigen Hemmung der 7-DH-Reduktase, was an dem raschen Anstieg der 7-DH Konzentration im Plasma erkenntlich war. Das dabei im Plasma nachweisbare 7-DH mußte während dieser Zeit neu synthetisiert und in den Plasmapool ausgeschleust worden sein.

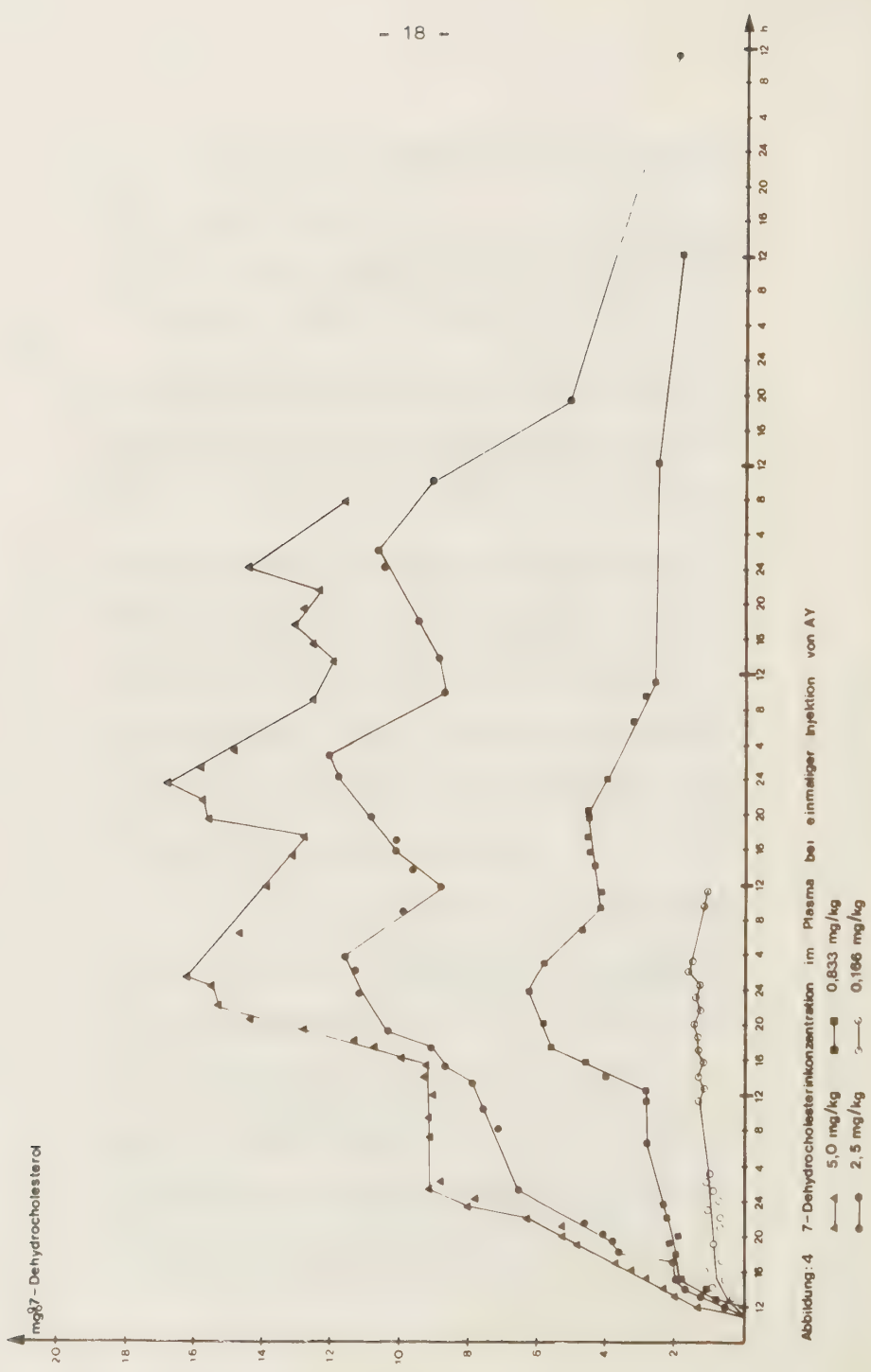


Abbildung 4 7-Dehydrocholesterinkonzentration im Plasma bei einmaliger Injektion von AY

Durch Einmalinjektion von mindestens 0,166mg/kg Ay 9944 also erhalten wir durch Blockierung der 7-DH-Reduktase einen raschen Einblick in die endogene Neusynthese und den Eintritt neusynthetisierter Sterine in den Plasmapool.

Interessant dabei ist die lange Zeit bestehende Hemmwirkung, und die bereits hier sichtbare Schwankung der 7-DH Konzentration in Abhängigkeit von der Tageszeit.

Erstellt man aus den nach Einmalinjektion verschiedener intravenös injizierter Ay 9944 Dosen erhaltenen Werten (siehe Abb.4) und einer nach 36 Stunden im Plasma bestehenden 7-DH Konzentration eine Dosis-Wirkungskurve, so ergibt sich der in Abb.5 dargestellte Verlauf.

### 3. Tägliche intravenöse Verabreichung von Ay 9944

Wie wir anhand unserer Dauerversuche feststellen, läßt sich durch Injektion von meist 2mg/kg/ die Ay 9944 einmal täglich (die Injektionen erfolgten in der Regel um 11 Uhr vormittags) ein konstanter 7-DH Spiegel im Plasma über mehrere Wochen erzielen, vorausgesetzt, die Blutabnahmen zur Bestimmung von 7-DH erfolgen zur gleichen Tageszeit (siehe D.II.4.Tag-Nacht Rythmik). Diese 7-DH Konzentration spiegelt eine partielle, aber weitgehend konstante Blockierung des

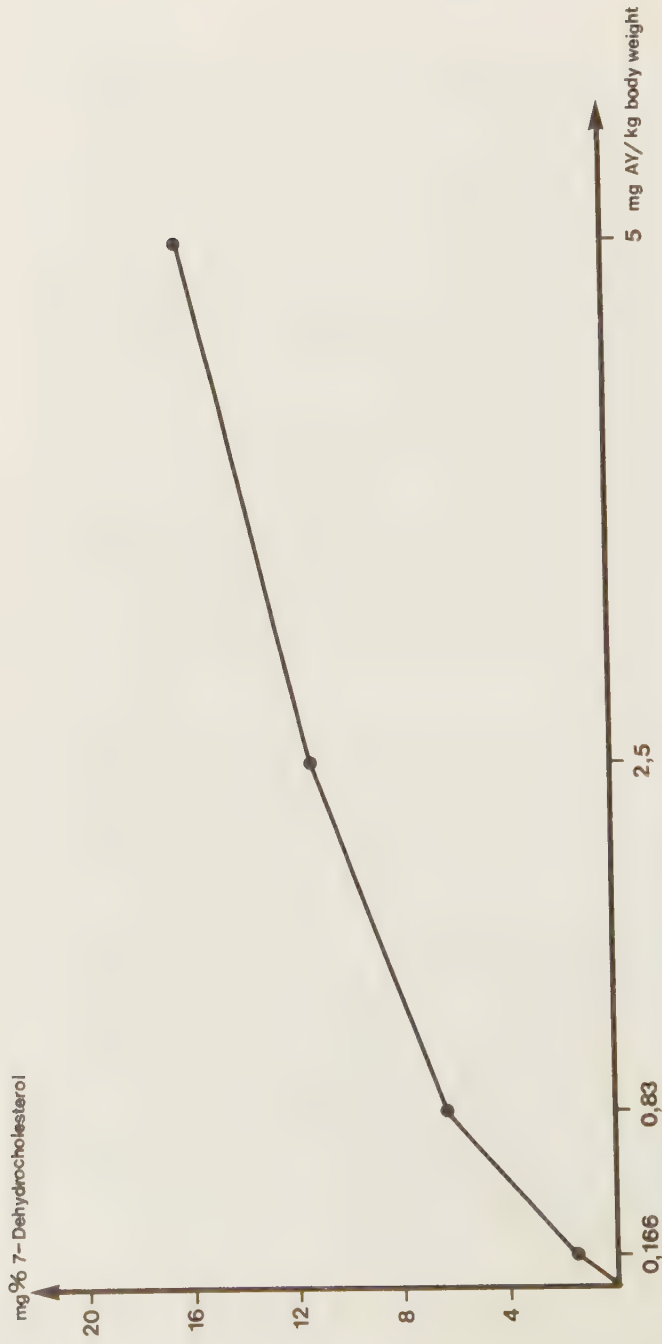


Abb. 5 Höhe des 7-Dehydrocholesterinspiegels im Plasma (36 Stunden nach einmaliger Injektion) in Abhängigkeit von der verabreichten AV-Dosis (Dosis-Wirkungskurve)

Cholesterinstoffwechselweges wieder. Eine komplette Blockierung wurde von uns nicht erstrebt, da die Menge des akkumulierten Substrates nur eine qualitative Aussage über die Regulation des Stoffwechselweges geben sollte.

Gemessen an der Cholesterinkonzentration im Plasma des Miniaturschweines, die zwischen 70-80mg% liegt, bedeutet der dabei erreichte 7-DH Spiegel von etwa 20-30mg% eine Blockierung um etwa ein Drittel.

#### 4. in vivo-Untersuchungen zur Tag-Nachtrhythmik der Cholesterinsynthese

Seit einigen Jahren ist bekannt, daß bei der Ratte eine starke tageszeitliche Abhängigkeit in der Geschwindigkeit der Cholesterinsynthese besteht. Diese circadiane Rhythmik mit einem Gipfel zwischen Mitternacht und 2Uhr morgens und einem Minimum der Synthese zwischen 12Uhr und dem frühen Nachmittag wird vor allem durch die hepatische Cholesterinsynthese reguliert. Für uns bestand nun die Frage, ob diese in der Leber beobachtete rhythmische Syntheseänderung für die Ratte spezifisch ist oder in vivo auch für andere Tierspezies gilt. Aus diesem Grunde untersuchten wir den tageszeitlichen Rhythmus der 7-DH Konzentration beim Miniaturschwein.

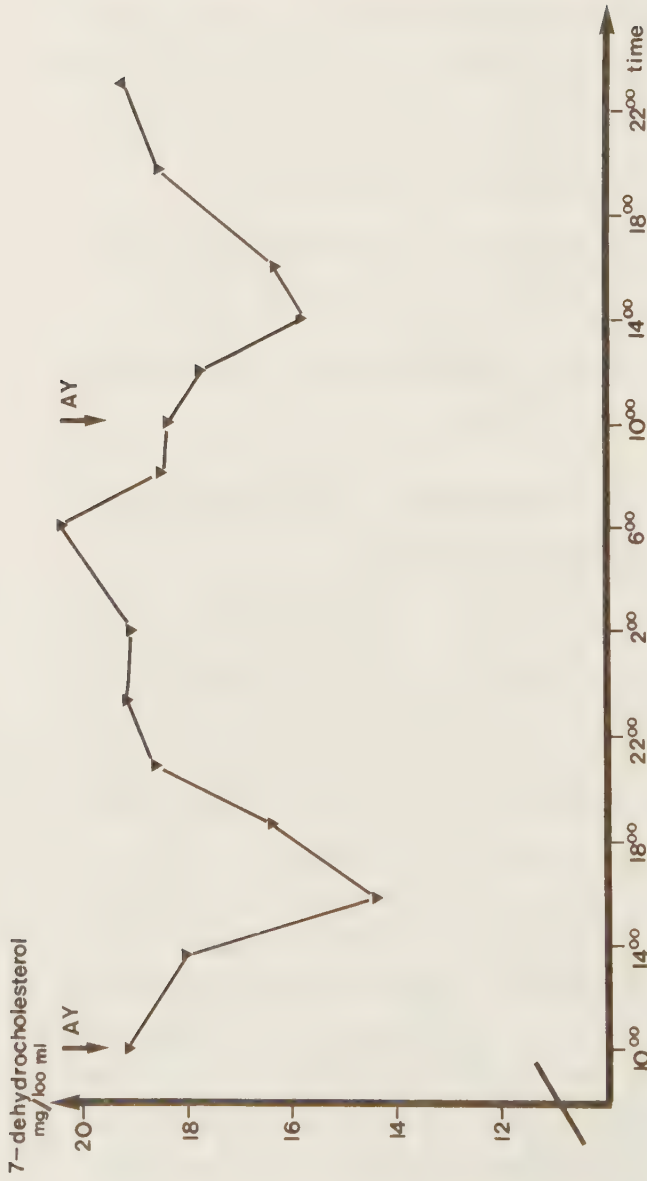


Abb.6 In vivo demonstration of a circadian rhythm in cholesterol biosynthesis  
in mini pigs

( Tag - Nachtrhythmus der 7-DH Konzentration im Plasma bei täglicher Injektion von AY um 11 Uhr )

Bereits aus den nach Einmalinjektion verschiedener Ay 9944 Dosen erhaltenen Verlaufskurven der 7-DH Konzentration im Plasma (siehe Abb.4) war auch beim Miniaturschwein in vivo eine ähnliche circadiane Rhythmik mit einem Maximum um Mitternacht und einem Minimum am frühen Nachmittag ersichtlich.

Bei unseren in vivo-Untersuchungen während täglicher intravenöser Ay 9944 Gabe und einer damit herbeigeführten partiellen, aber konstanten Blockierung der Cholesterinsynthese fanden wir einen zeitlich ähnlichen Rhythmus, wie er für die Rattenleber beschrieben wurde. Wie aus Abb.6 ersichtlich ist, zeigte sich in jedem Fall ein Maximum zwischen 23 Uhr und 2 Uhr und ein Minimum in den Nachmittagsstunden.

Auch nach der zeitlichen Verlegung der Injektion von Ay 9944 von ursprünglich 11 Uhr vormittags auf 3 Uhr nachts ergab sich hierin keine wesentliche Änderung (siehe Abb.7). Damit war bewiesen, daß der Rhythmus nicht vom Zeitpunkt der Ay 9944 Injektion abhängig ist.

Wir konnten außerdem nachweisen, daß unter experimentellen Bedingungen, bei denen es insgesamt zur Verminderung der Cholesterinsynthesegeschwindigkeit kommt (erhöhte Zufuhr von Nahrungscholesterin, Fastenperiode, medikamentöse Hemmung

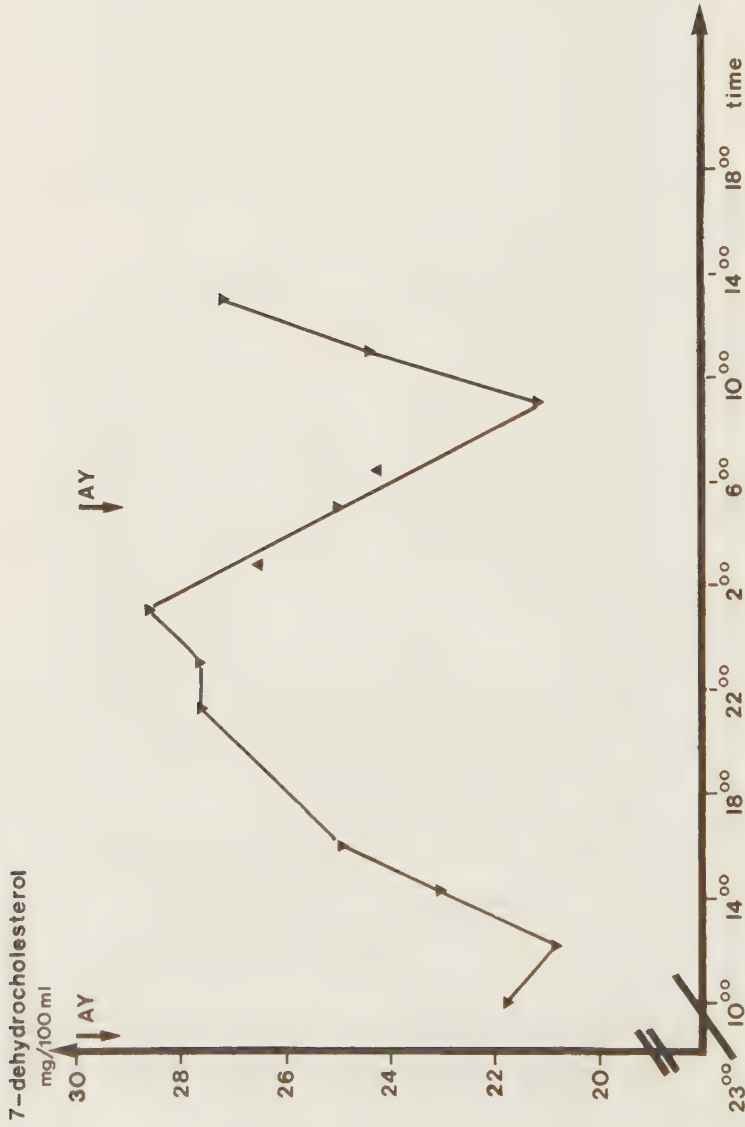


Abb. 7

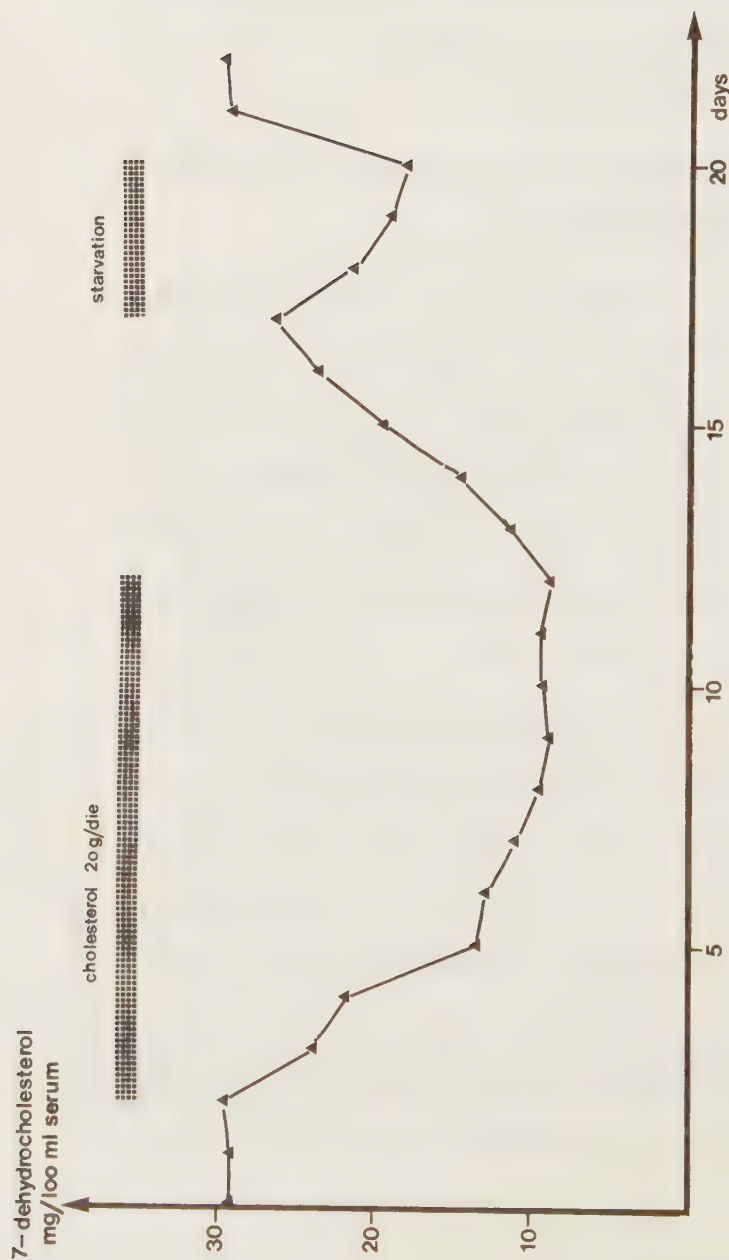
Tag-Nachrhythmus der 7-DH-Konzentration im Plasma bei täglicher Injektion von AY 9944 um 3 Uhr

der Cholesterinsynthese), diese diurnale Charakteristik der Cholesterinsynthese bzw. des 7-DH Spiegels erhalten bleibt.

#### 5. Diätetische Einflüsse auf die in vivo-Cholesterinsynthese

##### a) Einfluß von Nahrungscholesterin

Die Wirkung von mit der Nahrung zugeführten Cholesterins auf die Regulation der Cholesterinsynthese wurde von vielen Untersuchungsgruppen vor allem mit in vitro-Untersuchungen an Ratten geprüft, seit SCHOENHEIMER und BREUSCH (4) 1933 erstmals über einen Zusammenhang zwischen Nahrungscholesterin und Cholesterinsynthese berichteten. Phylogenetische Untersuchungen von SIPERSTEIN (5) zeigten, daß in der Leber aller Tiere, die Cholesterin synthetisieren können, auf exogene Zufuhr von Cholesterinsubstanz eine Kontrolle der Cholesterinsynthese durch einen feed-back Mechanismus festzustellen ist. Durch zusätzliche Gabe von Cholesterin zur Nahrung erzeugt man also bei verschiedenen Tierspezies (am besten untersucht sind diese Verhältnisse bei der Ratte) eine prompte Suppression der Cholesterinsynthese in der Leber, zu erkennen an einem verminderten Einbau von  $^{14}\text{C}$ -Acetat



Influence of cholesterol feeding and fasting on in vivo cholesterol synthesis in mini pigs. (AY 9944: 2mg/kg/die i.v.)

Abb.8

Einfluß von Nahrungscholesterin und Fasten auf die 7-DH-Konzentration im Plasma

in das Cholesterin und einer Verminderung der enzymatischen Aktivität der HMG CoA-Reduktase (6).

Wie unsere Untersuchungen nun zeigten, wird durch zusätzliche Gabe von 20g Cholesterin zum täglichen Futter bereits nach kurzer Zeit eine Verminderung der 7-DH Konzentration im Plasma erzielt. Schon nach drei Tagen sank der 7-DH Spiegel um 50%, nach etwa sechs Tagen war er  $\frac{2}{3}$  niedriger als der Ausgangswert (siehe Abb.8).

b) Der Einfluß einer Fastenperiode auf die Cholesterinsynthese

Bei täglich einmaliger Blutentnahme und Bestimmung der 7-DH Konzentration kommt es bei vollständiger Aufhebung der Nahrungszufuhr zu einer signifikanten und raschen Verminderung des 7-DH Spiegels im Plasma, wie Abb.8 veranschaulicht.

In einem zweiten Versuch, bei dem die Blutentnahmen in kürzeren Abständen erfolgten, machten wir die äußerst interessante Beobachtung, daß auch bei einer Fastenperiode die Tag-Nachtrhythmik erhalten bleibt. Es zeigte sich nämlich, daß sich an den rhythmischen Oszillationen im 7-DH Spiegel in Bezug auf

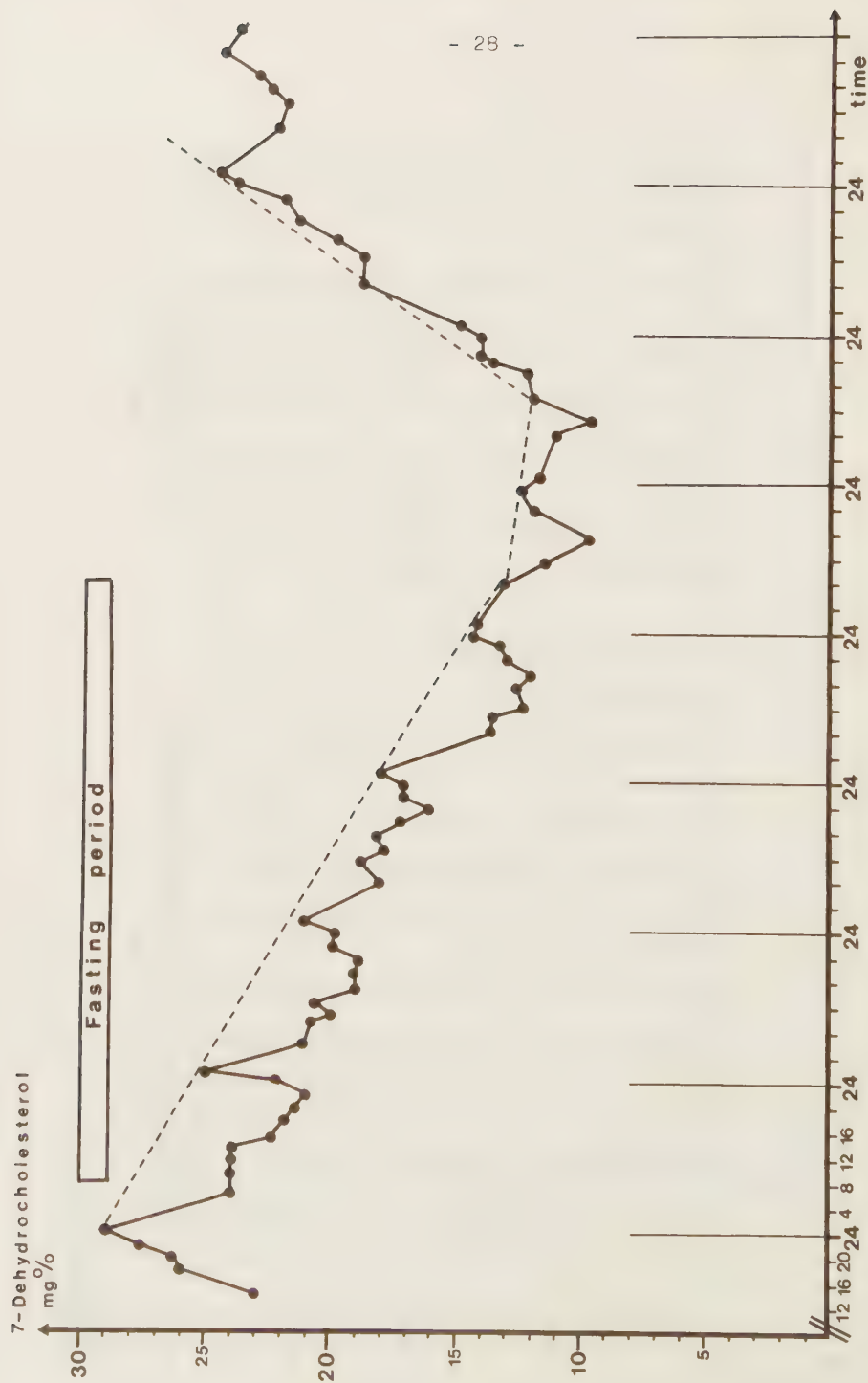


Abb. 9 Verlauf der 7-DH Konzentration im Plasma während einer Fastenperiode

ihren zeitlichen Charakter nichts ändert, lediglich die Amplitude der Rhythmik nahm in ihrem Verlauf etwas ab. Nach Wiederfütterung kam es zu einer raschen Neusynthese und Ausschleusung von 7-DH in das Plasma, wiederum mit unveränderter tageszeitlicher Rhythmik (siehe Abb.9).

#### 6. Beeinflussung der in vivo-Cholesterinsynthese durch Änderung der intestinalen Absorption und Reabsorption von Cholesterin mittels Verabreichung von Algin und Tomatin

Die hepatische Cholesterinsynthese in der Ratte wird außer von dem mit der Nahrung zugeführten und aus dem Darm absorbierten Cholesterin noch von dem enterohepatisch zirkulierenden Cholesterin beeinflusst.

##### a) Einfluß von Algin

Durch Algin kann bei der Ratte, vermutlich durch Komplexbildung, die Reabsorption von Cholesterin und Gallensäuren aus dem Dünndarm vermindert werden. In unseren Untersuchungen hierzu am Miniaturschwein führte die Gabe von 40g Natriumalginat zur täglichen Futtermenge zur raschen und deutlichen Erhöhung des 7-DH Spiegels im Plasma. Nach Absetzen der Alginzufuhr erreichte die in vivo Cholesterinsynthese wieder sehr schnell ihre Ausgangswerte (siehe Abb.10).



Abb.10 Anstieg der 7-DH-Konzentration im Plasma bei Hemmung der Cholesterinabsorption des Darms durch Zusatz von Algin (40g/die) zum Futter

b) Einfluß von Tomatin

Während Algin durch die Hemmung der intestinalen Cholesterinabsorption gleichzeitig auch noch die Gallensäureabsorption bzw.-exkretion beeinflusst, übt Tomatin lediglich eine Hemmung der intestinalen Cholesterinabsorption aus, da es im Gastrointestinaltrakt einen nicht resorbierbaren Komplex mit Cholesterin bildet. Bei Zugabe von Tomatin in relativ geringer Menge (10mg/kg/die) zum täglichen Futter steigt der 7-DH Spiegel im Plasma sehr rasch und deutlich an, das heißt, die Cholesterinsynthese wird allein durch Verminderung der intestinalen Cholesterinabsorption ohne gleichzeitige Beeinflussung des Gallensäurestoffwechsels deutlich stimuliert, wie Abb.11 zeigt.

7. Untersuchungen zur in vivo-Cholesterinsynthese unter dem Einfluß verschiedener Serumcholesterin senkender Medikamente

a) Einfluß von CPIB

CPIB senkt die Cholesterinkonzentration im Serum und in der Leber bei Ratten, das Serumcholesterin beim Menschen sowie die Serumtriglyzeride bei Ratten und beim Menschen (6,7,8). Diese Wirkung soll zumindest teilweise durch eine Hemmung der Cholesterinsyn-

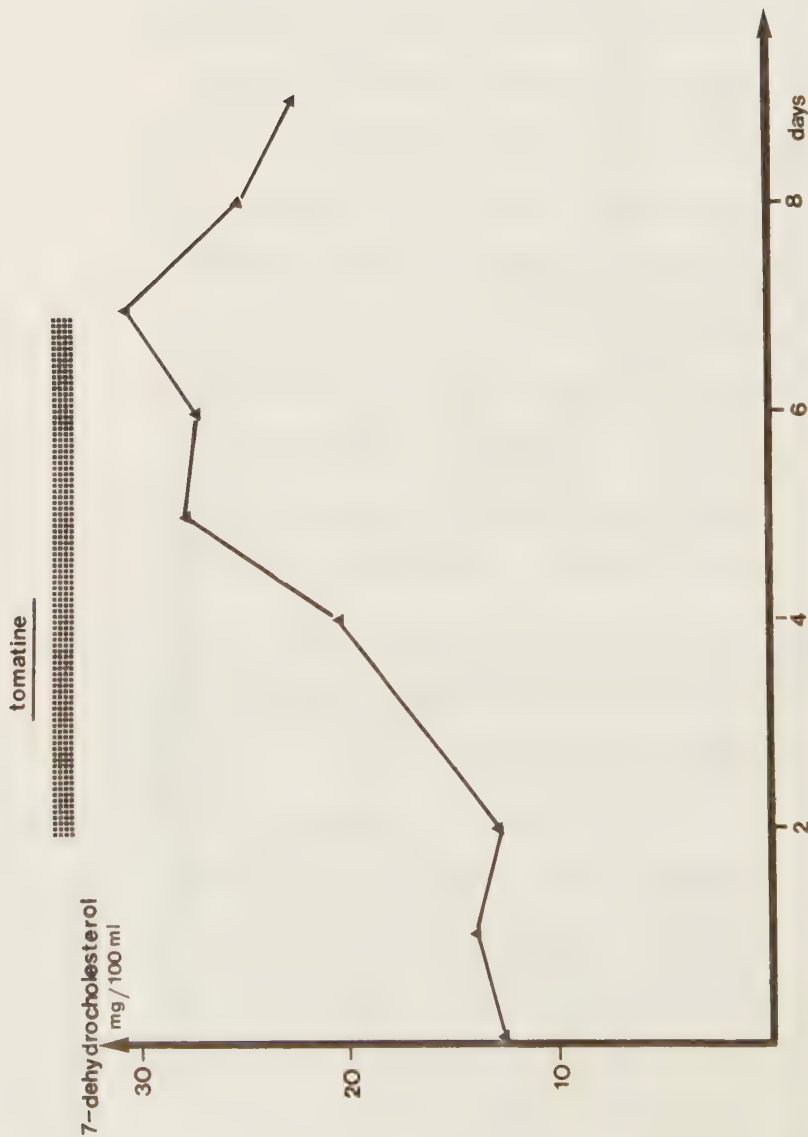


Abb.11 Effect of dietary tomatine (10mg/kg/die) on cholesterol biosynthesis in vivo in mini pigs.  
Anstieg der 7-OH-Konzentration im Plasma bei Hemmung der Cholesterinabsorption  
des Darms durch Zusatz von Tomatin (10 mg/kg/die) zum Futter

these in einem frühen Schritt des Cholesterinstoffwechsels zustande kommen. Ein genauerer Mechanismus der lipidsenkenden Wirkung von CPIB ist jedoch nicht bekannt.

Für unsere Untersuchungen verabreichten wir dem Miniaturschwein CPIB in einer Dosierung von 100mg/kg/die oral. Dies führte bereits innerhalb der ersten drei Tage zu einer raschen Verminderung des 7-DH Spiegels im Plasma. Die maximale Hemmung der in vivo-Cholesterinsynthese um etwa 50% trat bei dieser Dosierung nach etwa 10 Tagen ein. Nach Absetzen von CPIB kam es innerhalb von etwa drei Tagen zum Wiederanstieg auf die Ausgangswerte, wie Abb. 12 deutlich macht.

b) Einfluß von  $\beta$ -Pyridylcarbinol auf die in vivo Cholesterinsynthese

Die Therapie mit Nikotinsäure bzw. deren Alkohol  $\beta$ -Pyridylcarbinol gilt als eine der wirkungsvollsten Behandlungsmethoden bei den meisten Hypercholesterinämien. Der Wirkungsmechanismus ist nicht genau geklärt. Es wird sowohl eine Hemmung der endogenen Cholesterinsynthese als auch eine Hemmung der peripheren Lipolyse diskutiert.

# CPIB

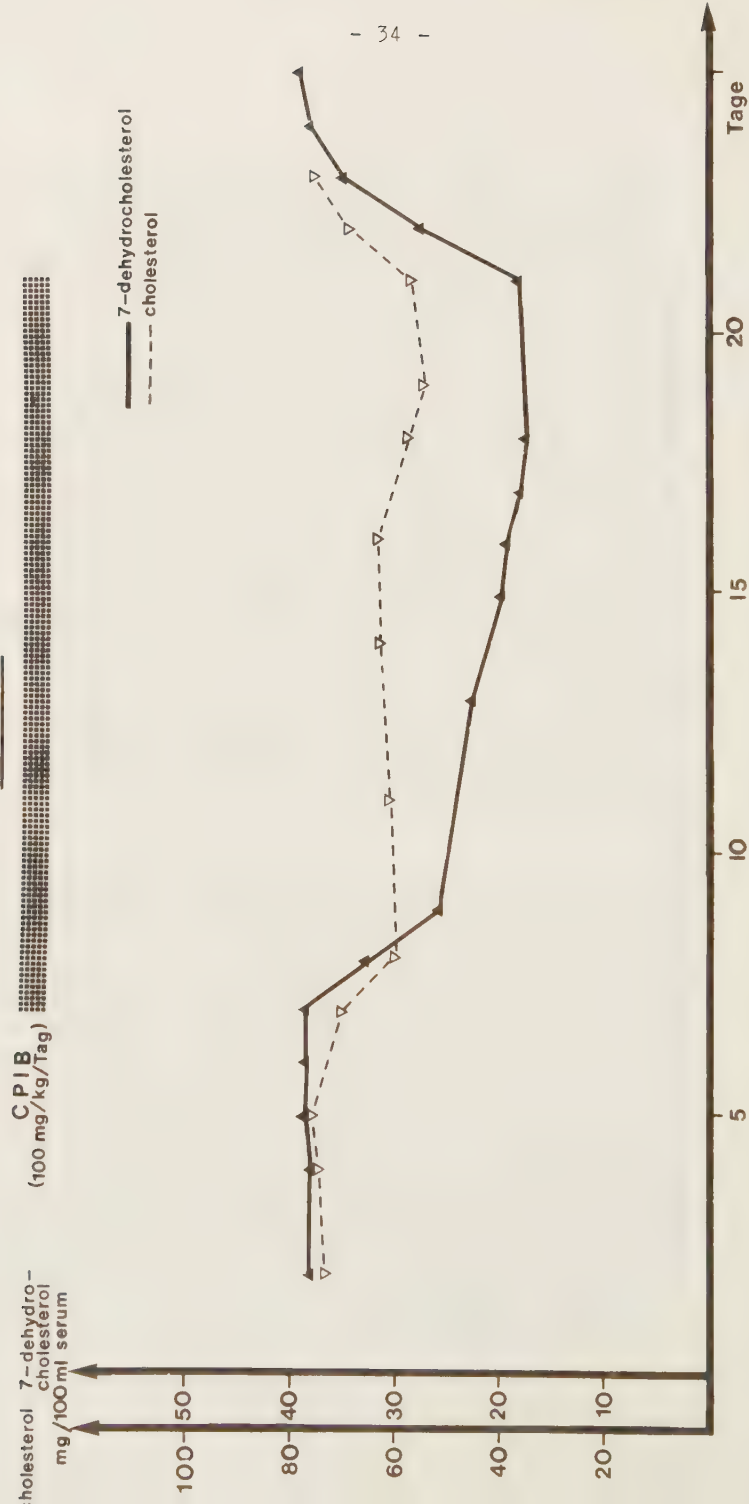
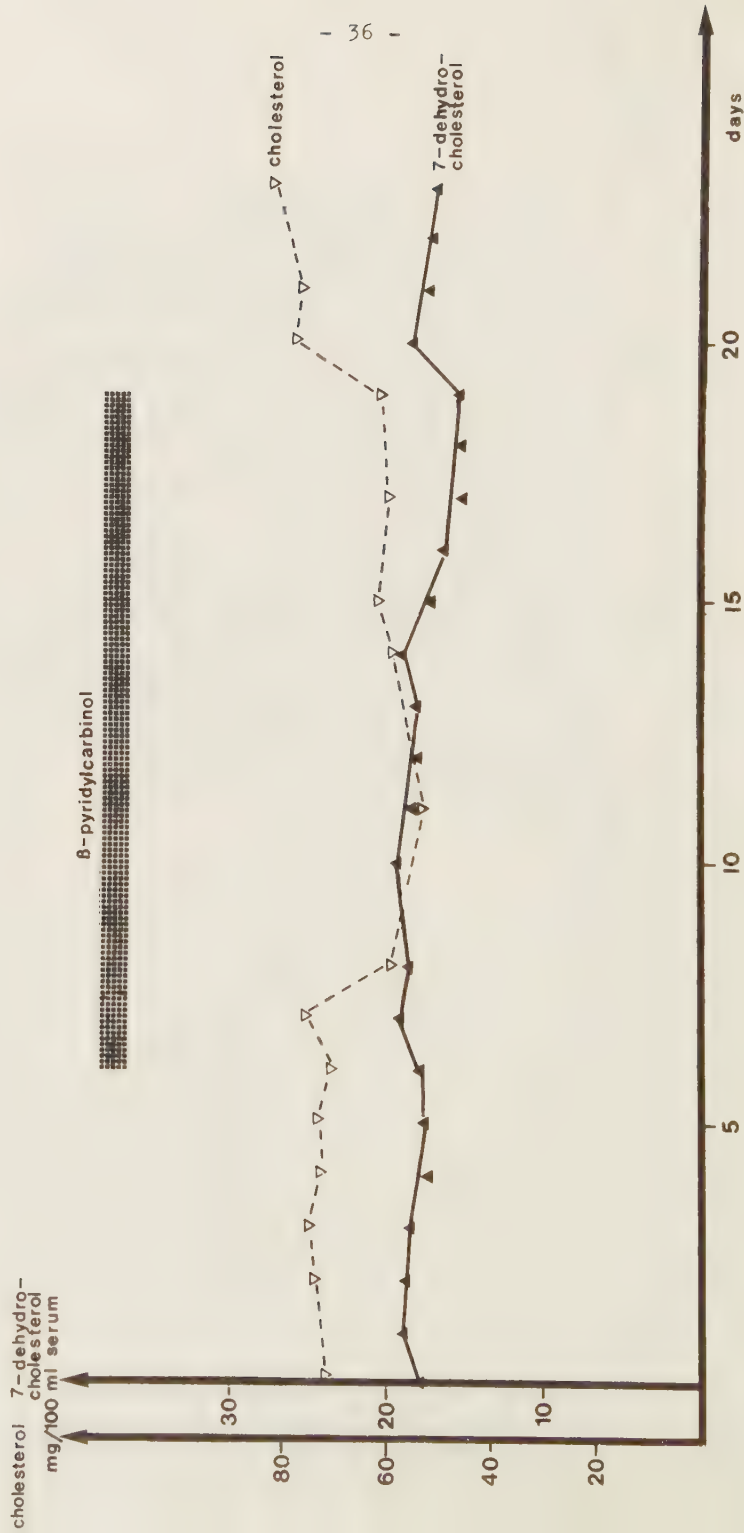


Abb. 12 Einfluß von CPIB (100 mg/kg/die) auf die 7-DH-Konzentration im Plasma

Im Gegensatz zu CPIB konnte in unseren Untersuchungen während 14-tägiger oraler Gabe von  $\beta$ -Pyridylcarbinol beim Miniaturschwein in einer Dosierung von 8mg/kg/die keine wesentliche Änderung des 7-DH Spiegels im Plasma beobachtet werden, obwohl der Cholesterinspiegel im Plasma um etwa 15-20mg% absinkt (siehe Abb.13).

Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß die cholesterinsenkende Wirkung von  $\beta$ -Pyridylcarbinol im Plasma nicht durch eine Hemmung der hepatischen Cholesterinsynthese zustande kommt, dagegen eher eine periphere Wirkung angenommen werden muß.

Abb. 13 7-DH-Konzentration im Plasma nach oraler Gabe von  $\beta$ -pyridylcarbinol (8mg/kg/die)



## E. ZUSAMMENFASSENDE DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die heutigen Kenntnisse über den Cholesterinstoffwechsel und vor allem über die Regulation der Cholesterinsynthese basieren in erster Linie auf in den letzten Jahren durchgeführten tierexperimentellen Untersuchungen. Da die bestuntersuchteste Tierspezies die Ratte ist, stammen bisherige Kenntnisse über die hepatische Regulation der Cholesterinsynthese insbesondere von in vitro-Untersuchungen an Rattenlebern. Quantitative in vivo-Untersuchungen am Tier oder selten auch am Menschen wurden mit Isotopen durchgeführt. Die Aussagekraft dieser Ergebnisse ist im Augenblick aber noch etwas strittig.

Ziel der hier vorliegenden Untersuchungen war es, ein Modell zu entwickeln, das die Möglichkeit bieten sollte, zumindest den endogenen Beitrag der Sterolsynthese zum Plasmapool ohne Verwendung von Isotopen und am lebenden Tier in fortlaufenden Untersuchungen zu beobachten. Ferner sollten sich regulative Einflüsse auf die Cholesterinsynthese, die sich indirekt in der Änderung des Plasmasterolpools ausdrücken, laufend objektivieren lassen. Dies schien theoretisch möglich, wenn es uns gelingen sollte, ein Enzym am Ende der Stoffwechselkette der Cholesterinsynthese unter in vivo-Bedingungen partiell, aber in konstanter Weise zu hemmen und somit aus dem durch die Hemmung an-

fallenden Akkumulationsproduktes vor dem gehemmten Enzym Aussagen über die Geschwindigkeit der Synthesekette zu treffen.

Aus in vitro-Untersuchungen an Rattenlebern schienen uns für diese Methode zwei Hemmstoffe in Frage zu kommen, Ay 9944 und MER/29.

Da wie bekannt MER/29 die Desmosterin-Reduktase hemmt, fällt bei kompletter Hemmung dieses Enzyms überwiegend Desmosterin an. In wie weit bei Hemmung des Stoffwechselweges über Desmosterin (siehe Abb.1) die Cholesterinsynthese über 7-DH läuft oder sogar induziert wird, ist nicht bekannt. Jedenfalls konnten BRICKER, WEISS et al. (1) bei Gabe von MER/29 an Ratten nachweisen, daß das dabei zu beobachtende Auftreten von Desmosterin im Plasma Aussagen über den endogenen Sterolsynthesebeitrag zum Plasmasterolpool zuläßt.

Aus den von uns gewonnenen und unter D.I.1. aufgeführten Ergebnissen an Ratten aber ist zu ersehen, daß ein entscheidender Nachteil bei der in vivo Untersuchung der Cholesterinsynthese durch MER/29 augenscheinlich die Tatsache ist, daß durch Akkumulation von Desmosterin eine Rückkopplung auf die Gesamtcholesterinsynthese am Tier zustande kommt, sich somit also durch exogene Einflüsse aufgetretene Änderungen in der Cholesterinsynthese nicht eindeutig interpretieren lassen.

Praxisorientierte und kliniknahe tierexperimentelle Untersuchungen müssen die Unterschiedlichkeit sowohl der regulativen Einflüsse als auch der quantitativen Verhältnisse von Stoffwechselprozessen zwischen den verschiedenen Tierspezies einerseits und dem Menschen andererseits berücksichtigen. In Hinsicht auf Vergleichbarkeit des Lipidstoffwechsels mit dem Menschen scheinen Tierexperimente am Miniaturschwein den menschlichen Verhältnissen am nächsten zu kommen. Aus diesem Grunde verwendeten wir in den hier zu besprechenden Untersuchungen HANFORD-Miniaturschweine.

Inkomplette aber konstante Blockierung der 7-DH-Reduktase konnten wir in unseren Untersuchungen am lebenden Tier durch geeignete tägliche intravenöse Gabe von Ay 9944 erreichen. Das dabei anfallende 7-DH im Plasma spiegelt die in vivo erfolgte Cholesterinsynthese und die Ausschleusung neu synthetisierten Sterols in den Plasmapool wieder. Unsere Untersuchungen zeigten, daß einmalige Injektionen von Ay 9944 zu einem sofortigen, konzentrationsabhängigen Anstieg der 7-DH Konzentration im Plasma führen; die Hemmung der Umwandlung von 7-DH zu Cholesterin geschieht damit akut. Das anstelle von Cholesterin im Stoffwechsel unmittelbar nach der Injektion neu synthetisierte 7-DH wird gleichfalls sehr schnell in den Plasmapool ausgeschleust. Rasch eintretende Änderun-

gen in der Cholesterinsynthesegeschwindigkeit sind somit im Plasmasterolpool zu erfassen.

Aus unseren Untersuchungen war außerdem ersichtlich, daß es mit der hier beschriebenen Methode möglich ist, Änderungen in der Geschwindigkeit der in vivo Cholesterinsynthese unter physiologischen experimentellen Bedingungen zu erfassen. Voraussetzung hierfür ist allerdings, daß weder in der Exkretion noch dem Katabolismus bzw. im Austausch der verschiedenen Cholesterin pools im Körper durch experimentelle Manipulationen gleichzeitig entscheidende Änderungen auftreten (siehe Abb.14).

Die Ursache für die vor allem in Rattenexperimenten beobachtete circadiane Rhythmik der Cholesterinsynthese ist noch umstritten. Die am meisten favorisierte Theorie ist die Induktion der Cholesterinsynthese durch einen von der Nahrungsaufnahme abhängigen Faktor. Obwohl das Miniaturschwein im Gegensatz zur Ratte ein "Tagtier" mit dementsprechend anderen Fütterungsgewohnheiten ist, weist es in unseren Untersuchungen in vivo die gleiche Tag-Nachtrhythmik in der Cholesterinsynthese auf wie die Ratte. Es scheint damit nicht sehr wahrscheinlich, daß die Fütterung bzw. die Kalorienaufnahme selbst den Auslöser für den Rhythmus darstellt. Es ist vielmehr anzunehmen, daß die diurnale Rhythmik in irgendeiner Weise endogen ausgelöst wird, zumal während einer länger dauernden Fastenperiode

Synthesis Absorption



Input



Output

▲ 7-Dehydrocholesterol  
○ Cholesterol

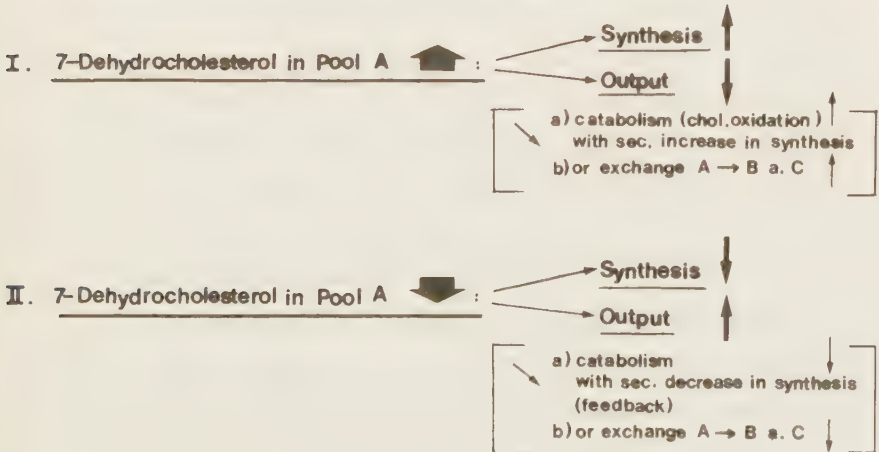


Abb. 14

sich zeitlich keine Änderung in der Rhythmik zeigen läßt.

Unsere Untersuchungen zur Auswirkung des Nahrungscholesterins auf die in vivo-Cholesterinsynthese beweisen, daß das Miniaturschwein eine nahrungsbedingte Erhöhung in der Cholesterinabsorption kompensieren kann, indem es über einen Rückkopplungsmechanismus seine Cholesterinsynthesegeschwindigkeit entsprechend hemmt. Bei täglicher Gabe von Cholesterin-Reinsubstanz zum Futter nämlich vermindert sich der 7-DH Spiegel im Plasma beträchtlich. Durch eine Hemmung der intestinalen Cholesterinabsorption mittels Algin oder Tomatin steigt der 7-DH Spiegel im Plasma dagegen stark an, was auf eine Kompensation der verminderten Cholesterinabsorption durch eine vermehrte Neusynthese in der Leber schließen läßt.

Schon aus früheren Rattenexperimenten war bekannt, daß eine Fastenperiode hemmend auf die Cholesterinsynthese wirkt, was sich auch durch geringeren <sup>14</sup>C-Acetateinbau in das Cholesterin der Rattenleber zeigen ließ. Durch Aufhebung der Kalorienzufuhr beim Miniaturschwein kommt es in unseren Experimenten zu einer deutlichen Senkung der 7-DH Konzentration im Plasma, wobei interessanterweise die diurnalen, rhythmischen Oszillationen in ihrem zeitlichen Charakter erhalten bleiben. Dieser Fasteneffekt auf

die Cholesterinsynthese dürfte ebenso wie die Tag-Nachtrhythmik selbst auf das Zusammenspiel ein oder mehrerer hormoneller Wirkungsmechanismen auf die HMG CoA-Reduktase zurückzuführen sein.

Unsere in vivo-Untersuchungen zur Wirkungsweise der in der Klinik zur Therapie der Hyperlipidämien mit Erfolg eingesetzten Substanzen CPIB und  $\beta$ -Pyridylcarbinol können auf folgende Weise interpretiert werden:

Die cholesterinsenkende Wirkung von CPIB kommt am wahrscheinlichsten durch eine Verminderung der hepatischen Cholesterinsynthese zustande, während für  $\beta$ -Pyridylcarbinol kein solcher Einfluß nachgewiesen werden kann, sondern eher ein peripherer Angriffspunkt diskutiert werden muß.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. L.A.BRICKER, H.J.WEISS und M.D.SIPERSTEIN  
J.Clin.Invest. 51, 197-205 (1972)
2. E.KIM und M.GOLDBERG  
Clin.Chem. 15, 1171 (1969)
3. D.DVORNIK und P.HILL  
J.Lipid.Res. 9, 587-595 (1968)
4. R.SCHOENHEIMER und F.BREUSCH  
J.Biol.Chem. 103, 439-448 (1933)
5. M.D.SIPERSTEIN  
Current Topics in Cellular Regeneration  
ed.by B.L.HORECKER and E.R.STADTMAN  
Ac.Press New York and London 2, 65-100 (1970)
6. W.KAISER  
Untersuchungen zur Regulation der hepatischen Cholesterinsynthese bei stoffwechselgesunden Personen, Patienten mit essentieller Hypercholesterinämie und im Tierexperiment unter der Einwirkung verschiedener cholesterinsenkender Medikamente.  
Habilitationsschrift, München 1972
7. S.M.GRUNDY, E.H.AHRENS und E.QUINTAO  
J.Clin.Invest. 48, 33a (1969)
8. S.M.GRUNDY, A.F.HOFMANN, J.DAVIGNON et al.  
J.Clin.Invest. 45, 1018-1019 (1966)

Herrn Priv.-Doz.Dr.W.Kaiser danke ich  
herzlich für die Überlassung des Themas  
und die stets hilfreiche Unterstützung  
bei der Durchführung der Arbeit.

## G. LEBENS LAUF

Dieter Andreas  
Brechenmacher

geboren am 14.3.1943 in München  
als Sohn des Sportlehrers Georg  
Brechenmacher und seiner Ehefrau  
Rosl, geb. Lindinger.

### Schulbildung

1949-53 Volksschule in Gräfelfing  
bei München  
1953-58 Oberrealschule  
München-Pasing  
1958-62 Bundesrealgymnasium  
in Salzburg

Reifeprüfung

8.6.1962 in Salzburg

### Berufsausbildung

Chemiestudium  
Praktikantenzeit  
Pharm.Vorexamen  
Pharmaziestudium

WS 1962/63-SS 63 TH München  
1963-65 Forst-Apotheke München  
1965 in München  
WS 1965/66 - SS 1969 Universi-  
tät München

Pharm.Staatsexamen  
Kandidatenzeit

Dezember 1969  
Dezember 1969 - Dezember 1970  
Maxhof-Apotheke München

Approbation als  
Apotheker

Dezember 1970

Medizinstudium

WS 1970/71 - SS 1975 Universität  
München

Physikum

18.10.1972 in München

Med.Staatsexamen

Dezember 1975 in München

Vermählung

November 1972 mit Frl.Dr.  
Antje Münzing







